

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. Oktober 2005 (13.10.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/095117 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B42B 9/00**

(72) Erfinder; und

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/003220

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **ROBBEN, Uwe** [DE/DE]; G7, 4, 68159 Mannheim (DE). **LUCK, Thomas** [DE/DE]; Holzmühlstr. 7, 67435 Neustadt (DE). **SEYFFER, Hermann** [DE/DE]; Maass-Str.4, 69123 Heidelberg (DE). **HORMUTH, Wolfgang Alois** [DE/DE]; Von Dalbergstr. 17b, 67487 St Martin (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. März 2005 (26.03.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(74) Anwalt: **GOLDSCHIED, Bettina**; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

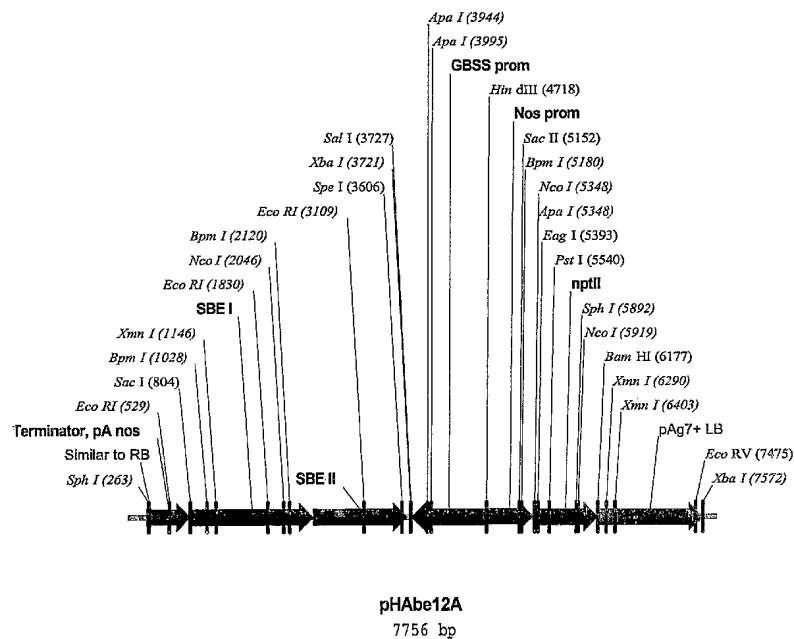
(30) Angaben zur Priorität:
102004016653.6 31. März 2004 (31.03.2004) DE

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: USE OF HYDROXYPROPYLATED HIGH AMYLOSE CONTENT POTATO STARCHES TO ACHIEVE HIGH KIT NUMBERS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON HYDROXYPROPYLIERTER HOCHAMYLOSEHALTIGER KARTOFFELSTÄRKE ZUR ERZIELUNG HOHER KIT-ZAHLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for the production of fat-resistant packaging materials with a kit number greater than 21, by the use of hydroxypropylated high amylose content potato starches.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/095117 A2



TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

Beschreibung

5

Gegenstand der Erfindung sind mehrschichtige, fettdichte Verpackungsmaterialien mit einer Trägerschicht, die aus Papier/Karton oder anderen geeigneten, auf Polymeren basierenden Stoffen bestehen.

10

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von fettdichtem Verpackungsmaterial mit einer KIT-Zahl von größer 21 durch Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 %.

15

Es ist seit langem bekannt, Papier- und Kartonbehälter mit Beschichtungen zu versehen, die eine Sperrwirkung für Aromen oder Feuchtigkeit/Flüssigkeiten besitzen. So beschreibt die Patentanmeldung DE 41 09 983 A 1 ein flexibles Verpackungsbehältnis mit einem Verbund aus einer Papierschicht und einer thermoplastischen Schicht oder Folie. Das thermoplastische Schicht- oder Folienmaterial besteht aus Stärke, einem

20

synthetischen, nicht- polyolefinischen, hydroxylgruppenhaltigen Polymeren, z.B. einem oxygenierten Polymeren, sowie Weichmachern natürlichen Ursprungs, z.B. stärkeabgeleiteten Polyalkoholen. Dieses Material kann durch Wärmezufuhr aufgeschmolzen werden und ist daher extrudierbar. In der Patentanmeldung DE 41 37 802 A1 wird vorgeschlagen, einen Karton mit einer beschichteten Papierbahn zu kaschieren, um ein verrottbares, flüssigkeitsabweisendes Produkt zu erhalten. Die Beschichtung der Papierbahn soll auf Stärkebasis erfolgen. Die Patentanmeldung DE 42 94 110 offenbart eine Beschichtungsdispersion, die aus Copolymerisaten von oxidierte Stärke und Styrol, Butadien, Acrylsäure oder ähnlichen polymerisierbaren Molekülen erzeugt wird.

25

Diese Dispersion vermindert die Gas- und Wasserdurchlässigkeit von Karton oder Papier.

30

Allerdings ist es häufig notwendig, Verpackungsmaterialien mit hoher Fettdichtigkeit bereitzustellen. So fordern Tiernahrung, Backwaren, Konfekt und Schokolade von der Verpackung eine besonders hohe Fettdichtigkeit, die beispielsweise durch die KIT-Zahlen mit Werten zwischen 8 und 12 angegeben werden. Hohe KIT-Zahlen stehen dabei für hohe Fettdichtigkeiten.

35

Entsprechende im Handel angebotene Papier-/Kartonverpackungen sind üblicherweise einer fettabweisenden Oberflächen- und/oder Massebehandlung unterzogen worden.

40

Für diese Massebehandlung bzw. Oberflächenbehandlung werden derzeit vor allem Fluorpolymere eingesetzt, wobei etwa bis zu 5 Gew.-% Beschichtungsmaterial auf das Material gelangen. Bereits Fettdichten > 6 bis 8 können nur durch Kombinationen von

Schicht- und Massebehandlung erreicht werden, Fettdichten mit KIT-Zahlen > 12 können mit den gegenwärtigen Systemen nicht garantiert werden. Beispielsweise erfordert das Verpacken von trockenem Tierfutter mit niedrigem Fettgehalt (< 10 %) eine Behandlung der Rückseite in der Masse, bei höheren Fettgehalten wird eine Barriere durch Massebehandlung in Kombination mit einer Oberflächenbeschichtung durchgeführt.

Papier-, Papp- und Kartonverpackungen werden ordnungsgemäß über den Altpapierkreislauf entsorgt. Die als Fettbarriere eingesetzten Halogenpolymere gelangen somit über die Papieraufbereitung entweder in die Papierneueware oder in das Prozessabwasser.

Stärkeether sind als Hilfsstoffe und Einsatzstoffe in der Papierindustrie bekannt. Dabei genutzte Eigenschaften sind in der einschlägigen Literatur ausführlich beschrieben. Sie werden eingesetzt in der Oberflächenbeschichtung bzw. dem Strich sowie in pigmentierten Papierbeschichtungen. Auch für den Lebensmittelkontakt zugelassene Papiere, Kartons und Pappen dürfen nach dem BGVV Stärkeether (z.B. Hydroxyethyl- und Hydroxypropylether) enthalten. Stärkeether werden wegen ihrer guten Filmbildungseigenschaft und ihrem Wasserbindevermögen außerdem als Bestandteil von Klebstoffen verwendet. Literatur hierzu findet sich beispielsweise in Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie; W. Baumann/B. Herberg: Papierchemikalien - Fakten zum Umweltschutz (Springer-Verlag); O.B. Würzburg:

Modified Starches: Properties and Uses (CRC Press).

WO 02/02412 beschreibt mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter basierend auf nativer, modifizierter Stärke.

Weiterhin ist bekannt, dass Stärkeether-Derivate zu Folien bzw. Filmen verarbeitet werden können, vornehmlich in Gießtechnik aus einer wässrigen Lösung.

Wenn die Herstellung der Stärkeether nach dem Slurry-Verfahren erfolgt, wird die wässrige Stärkesuspension im Alkalischen bei Temperaturen bis zu 50°C derivatisiert. Der Derivatisierungsgrad liegt dabei meist um 0,2. Charakteristisch für diese Verfahren ist die bevorzugte Derivatisierung am C2-Atom. Ein anderes, vornehmlich aus wissenschaftlichen Untersuchungen bekanntes Verfahren (Autoklav-Verfahren) geht von alkalisch aktivierter Stärke aus und kommt bei geringeren Trockensubstanz- Konzentrationen zu homogenen Derivatisierungen, wobei der Derivatisierungsgrad allerdings ähnlich eingestellt wird. Ein Vorgehen nach dieser Strategie ist in der Patentanmeldung DE 42 23 471 A1 beschrieben, wobei die so erhaltenen Stärkeether zur Folienherstellung eingesetzt werden sollen, und zwar insbesondere für die Anwendung als Overhead-, Kopier- und Druckerfolien oder für die Oberflächenveredlung von Spezialpapie-

ren sowie als Verpackungsmaterial. Darüber hinaus wird in dieser Druckschrift erwähnt, dass die genannten Etherderivat-Folien auch im Verbund mit anderen Materialien verwendet werden können.

- 5 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von lebensmittelrechtlich zulässigen, fettdichten Verpackungsmaterialien mit sehr hoher KIT-Zahl.

Überraschenderweise hat sich herausgestellt, dass Substrate, die selbst keine ausreichende Fettbeständigkeit aufweisen, wie Papier, Karton, Pappe oder andere aus oder
10 mit Cellulose hergestellte Materialien, dann fettdicht sind, wenn sie mit alkylendioxyderivatisierter Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% beschichtet sind.

Die vorliegende Erfindung stellt daher mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter oder Teile solcher Verpackungen bereit, die eine Trägerschicht aus einem polymeren
15 Material als Hauptkomponente sowie mindestens eine auf die Trägerschicht aufgebrachte, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht aufweisen, wobei die auf die Trägerschicht aufgebrachte Schicht eine alkylendioxyderivatisierte Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% als Hauptkomponente enthält. Das hierfür verwendete Alkylendioxy kann in gut geeigneter Weise ein C₂-C₆-Alkylendioxy sein. C₂-C₄-
20 Alkylendioxye sind bevorzugt.

Die Beschichtung eines Trägermaterials mit der Funktionsschicht "Hochamylose(HA)-Stärkederivat" realisiert ein fettdichtes Verbundsystem. Die HA-Stärkekomponente ist dabei verantwortlich für die Fettdichtigkeit und weist zudem die Eigenschaft der biologischen Abbaubarkeit auf. Außerdem lässt sich eine solche Stärke gut in Beschichtungs-
25 massen für den angegebenen Zweck einarbeiten, da sie - im Gegensatz zu nativer Stärke - nicht zum Re-Aggregieren (Retrogradation) neigt.

Die Verpackungen der vorliegenden Erfindung sind nicht auf spezifische Ausgestaltungen beschränkt. Ein beispielhafter, bevorzugter Anwendungsbereich sind Verpackungen von Lebens- und Tierfuttermitteln mit geringen Wassergehalten und gleichzeitig hohen Fettgehalten, insbesondere Faltschachteln. Beispiele hierfür sind Verpackungen für Kekse, Schokoladen, sonstige Süßwaren, trockenes Tierfutter, bei denen eine besonders gute Barriere gegen den Durchtritt von Wasserdampf nicht erforderlich ist.
30 Aber auch Verpackungen für fetthaltige Nicht-Lebensmittel (z.B. Kosmetika, ölhaltige Farbpigmente oder dergleichen) können erfindungsgemäß gestaltet werden.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen in der Beschichtung von anderen Polymeren als Cellulose mit dem erfindungsgemäß vorgeschlagenen Material (z.B. andere Verpackungskunststoffe) für ähnliche Verpackungsaufgaben. Auch die Beschichtung von
40 Papier im Sinne eines Einschlagpapiers ist eine mögliche Anwendung.

Mit den Verpackungsmaterialien der vorliegenden Erfindung lassen sich hohe Fettdichtigkeiten erzielen, die im Bereich ab einer KIT-Zahl von 10, vorzugsweise von mindestens 17, in der Regel aber wesentlich höher liegen. So können Dichtigkeiten einer KIT-Zahl von über 21 erreicht werden, die mit den bisherigen, nicht biokompatiblen bzw. -

5 abbaubaren Systemen nicht garantiert werden können.

Weitere Vorteile der erfindungsgemäßen Verpackungen sind, dass ihre Herstellung mit üblichen Verfahren der Papier- bzw. Kartonherstellung kompatibel ist und dass sie biologisch abbaubar sind, wobei sie hinsichtlich der ökonomischen und/oder ökologischen

10 Bewertungen im Vergleich zu üblichen Systemen als besonders vorteilhaft einzustufen sind, insbesondere wenn die Faktoren Preis der Beschichtung einschließlich Verfahrenskosten und die Verträglichkeit mit dem Papierrecyclingprozess berücksichtigt werden sollen.

Aufgrund ihrer Bioabbaubarkeit gewährleisten die erfindungsgemäß beschichteten Verpackungen eine gute Verträglichkeit mit den Aufbereitungs- und Abwasserreinigungsmöglichkeiten von Altpapierentsorgungsanlagen. Hier stellt das Abbauverhalten im Papierkreislauf im Sinne der Vermeidung eines weiteren Störstoffeintrags einen entscheidenden Vorteil dar. Geeignete Materialien für die Trägerschicht sind insbesondere

15 Papier, Pappe oder Karton, ggf. in Mischung mit anderen geeigneten oder in der Verpackungstechnologie von Lebensmitteln üblichen oder zulässigen Stoffen wie Bindemitteln oder Farbstoffen. Aber auch andere, bevorzugt auf natürlichen Polymeren wie Cellulose oder dergleichen basierende Materialien oder Kunststoffe können eingesetzt werden.

Erfindungsgemäß geeignete HA-Stärkederivate sind solche, die mit einem Alkylenoxid wie Ethylenoxid oder Propylenoxid oder einem längerkettigen Alkylenoxid derivatisiert wurden. Die angelagerten Gruppen vergrößern die Abstände zwischen den Molekülketten und steigern damit deren Beweglichkeit. Der damit gegebene innere Weichmachungseffekt kann nur durch eine Zerstörung der chemischen Bindung rückgängig gemacht werden.

25

30

Das HA-Stärkederivat sollte auf der Trägerschicht vorzugsweise einen geschlossenen Film bilden. Sofern dies der Fall ist, können bereits sehr dünne Schichten ab etwa

35 6 g/m² Flächengewicht fettdicht sein, sofern das Trägermaterial eine relativ hohe Glätte aufweist.

Die Beschichtung kann als Oberflächenschicht der Innenseite der Verpackung und/oder als Zwischenschicht, ggf. auch mit der Funktion einer verklebenden Schicht

40 zwischen Papier oder Kartonagelagen oder dergleichen vorgesehen sein. Auch mehrere direkt aufeinander aufgebraute Beschichtungen können vorteilhaft sein. Ebenso kann vor der Beschichtung mit dem HA-Stärkederivat ein sogenannter Vorstrich (z.B.

mit üblichen Papierbeschichtungsmitteln wie Kaolin oder Stärke) zur Anwendung kommen, der den Zweck einer Vorglättung der Oberfläche hat. Flächengewichte zum Erzielen einer fehlstellenfreien Schicht können so ggf. reduziert werden.

- 5 Die das HA-Stärkederivat enthaltende Schicht kann ggf. durch Aufbringen einer selbsttragenden Schicht aus diesem Material auf die Trägerschicht gelangen. Vorzugsweise wird jedoch eine Lösung oder Suspension des HA-Stärkederivats mit einer geeigneten Menge an Trockensubstanz erzeugt und auf dem Trägermaterial aufgetragen, vorzugsweise aus wässriger Lösung oder Suspension. Eine gut geeignete Menge an Trockensubstanz (TS) des HA-Stärkederivates liegt im Bereich von etwa 5 bis etwa 10 50 Gew.-%, bevorzugt im Bereich von etwa 10 bis etwa 40 Gew.-%, wobei die tatsächlich zu wählende Menge v o m vorgesehenen Auftragsverfahren abhängt. So kann in manchen Fällen eine Menge von bis hinunter zu 4 Gew.-% ausreichend sein.
- 15 Das Auftragen kann beispielsweise mit einem Rakel, Sprühen oder per Walzenauftrag erfolgen, ebenso durch "Druckgießen" einer konzentrierteren Lösung sowie durch das flächige Aufbringen einer thermoplastifizierten Schmelze ("Extrusion"). In allen Fällen sollte der Wassergehalt des HA-Stärkederivates nach dem Aufbringen auf dem Trägermaterial vorzugsweise auf < 25 Gew.-% reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit 20 IR oder konvektiv).

- Neben dem HA-Stärkederivat kann die auf der Trägerschicht aufzubringende Schicht auch weitere Additive enthalten. Zum einen bietet sich die Zugabe von Pigmenten (wie generell in der Papierindustrie üblich) an, andererseits die Zugabe von Glycerin, Harnstoff, Borax, Glyoxal oder anderen Zusatzstoffen mit ähnlichen Eigenschaften und Effekten, um gewünschte Werte bezüglich der Elastizität und der Wasser- und Langzeitstabilität zu erzielen. Auch die KIT-Zahl lässt sich in manchen Fällen durch Zusatz solcher Stoffe positiv beeinflussen, z.B. durch Zusatz von Glycerin oder Vernetzer (z.B. Glyoxal). Der Anteil an Hochamylose-Stärkederivat sollte vorzugsweise aber immer so 30 hoch sein, dass die Ausbildung eines fehlstellenfreien Films gewährleistet ist.

- Als Ausgangsmaterial wird vorzugsweise Kartoffelstärke mit einem Amylose Anteil von größer 70 % verwendet. Eine Kartoffelstärke mit einem Amyloseanteil von über 70 % kann beispielsweise aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen isoliert werden, in 35 denen die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und II gegenüber der nicht genetisch modifizierten Ausgangspflanze reduziert ist. Ein Verfahren zur Herstellung derartiger Pflanzen ist beispielhaft in Beispiel 1 beschrieben. Weitere Beschreibungen zur Herstellungen von gentechnisch modifizierten Kartoffelpflanzen mit einem Amyloseanteil von größer 70 % sind in den Patentanmeldungen WO 92/11375, 40 WO 97/20040, WO 92/14827, WO 95/26407 und WO 96/34968 und den Patenten US 5,856,467 US 6,169,226, US 6,469,231, US 6,215,042, US 6,570,066 und US 6,103,893 beschrieben.

Kartoffelpflanzen mit einer reduzierten enzymatischen Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II können alternativ auch durch Selektion von geeigneten mutagenisierten Kartoffelpflanzen gewonnen werden.

5

Als Ausgangsmaterialien können auch Stärken mit einem Amyloseanteil von größer 70 % aus anderen Kulturpflanzen wie beispielsweise aus Mais, Weizen, Erbsen oder Tapioca eingesetzt werden. Pflanzen mit einem Amylose Gehalt von größer 70 % können durch genetische Modifikation unter Verwendung molekularbiologischer Methoden und/oder durch Züchtung und Selektion hergestellt werden.

10

Unter HA-Stärke wird eine Stärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verstanden. Vorzugsweise liegt der Amylosegehalt bei mindestens 80 %, besonders bevorzugt bei mindestens 90 %.

15

Die chemische Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erfolgt beispielsweise mit einem C₂- oder C₃-Akrylenoxid. Propylenoxid ist bevorzugt.

20

Da die HA-Stärke in geeigneter Weise in Gegenwart von Base modifiziert wird, die für die Beschichtung vorgesehene Masse jedoch günstigerweise in etwa neutral reagieren sollte, so dass im Normalfall eine Neutralisierung mit Säure erfolgen muss, ist die modifizierte HA-Stärke in der Regel stark mit Salzen behaftet. Es ist von Vorteil, wenn dieser Salzgehalt nicht zu hoch ist. So empfiehlt es sich, dass die Beschichtungsmasse in der für den Auftrag vorgesehenen Konzentration eine Leitfähigkeit von nicht mehr als 4.000 - 5.000 pS/cm, vorzugsweise von < 2.000 pS/cm besitzt.

25

Die Zugabe von Säuren und Laugen sollte unter dem Gesichtspunkt erfolgen, dass das entstehende Salz lebensmittelrechtlich unbedenklich ist. Geeignete Säuren sind Phosphorsäuren, eine geeignete Base ist Natronlauge. Die Entsalzung kann beispielsweise durch Dialyse erfolgen.

30

Beschichtungen mit höher derivatisierter HA-Stärke zeigen günstigere KIT-Zahlen als solche mit geringeren Derivatisierungsgraden. Es ist aber nicht erforderlich, hohe Substitutionsgrade zu erreichen, denn bereits geringe Grade können zu positiven Effekten führen. Diese hängen aber auch von der Herkunft der eingesetzten HA-Stärke ab. Während ganz allgemein ein Derivatisierungsgrad von 0,05 bis 1,5 geeignet sein kann, sind Bereiche zwischen 0,1 bis 1,0, ganz besonders zwischen 0,1 und 0,3 bevorzugt.

35

40

Die Herstellung einer als Beschichtungsmasse oder Gießlösung für die vorliegende Erfindung geeigneten HA-Stärkeetherlösung kann beispielsweise wie folgt erfolgen: Die Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % (z.B. Weizen-, Mais-, Tapioka,

Kartoffel- oder HA-Erbsenstärke) wird in annähernd dem Doppelten ihres Gewichts an Wasser einige Stunden gerührt und anschließend grob vom Wasser befreit, z.B. durch Abnutschen. Sie nimmt dabei etwa ihr eigenes Gewicht an Wasser auf, so dass sie ungefähr 40 bis 60% Trockenmasse besitzt. Anschließend wird sie in etwa dem 1,5-fachen ihres Feuchtgewichts resuspendiert und durch Zugabe der gleichen Menge etwa 10%iger Base oder Lauge desintegriert. Sofort darauf werden innerhalb weniger Minuten bis ca. 1 Stunde etwa 25 - 75 Gew.-% Alkylendioxyd, vorzugsweise Propylenoxyd, bezogen auf das Ausgangsgewicht der trockenen HA-Stärke, zugeführt, wobei milde Temperaturen eingehalten werden sollten. Raumtemperatur ist gut geeignet.

Man lässt die Mischung mehrere Stunden rühren und anschließend etwa 20 Stunden ruhen; anschließend wird sie mit Säure neutralisiert. Soll eine Entsalzung erfolgen, geschieht dies z.B. durch Dialyse gegen Wasser. Die entsalzte Lösung wird ggf. schonend aufkonzentriert. Der Derivatisierungsgrad der HA-Stärke liegt bei Anwendung von etwa 50 Gew.-% Propylenoxyd bei etwa 0,2, in anderen Fällen entsprechend darüber oder darunter.

Eine Entsalzung oder Abtrennung störender Inhomogenitäten kann auch beispielsweise mittels Ultrafiltration erfolgen. Sollte das Produkt zu konzentriert sein, kann eine Verdünnung mit entionisiertem Wasser vorgenommen werden.

Nach Zusatz der möglicherweise gewünschten Additive (z.B. Konservierungsstoffe, Füllstoffe, Antistatika, Mittel zur Verbesserung der Elastizität, Vernetzungsmittel) kann bei Bedarf mittels Filter oder Zentrifuge eine mechanische Separation durchgeführt und dabei gleichzeitig eine Entgasung der zu verarbeitenden Lösung erreicht werden.

Eine für die Zwecke der Erfindung besonders geeignete Beschichtungslösung besitzt die folgenden rheologischen Eigenschaften:

Eine dynamische Viskosität von 0,1 Pas bis 40 Pas bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹. Viskoelastische Eigenschaften der Polymerlösung, wobei das Verhältnis zwischen viskosem und elastischem Anteil Tan K Werte zwischen 1 und 10 (max. 50) bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹ annimmt. Mit dem beispielhaft genannten Verfahren lassen sich solche Werte ohne weiteres erhalten.

Das Verfahren bietet ferner den Vorteil, dass die HA-Stärke besonders schonend und insbesondere durchgängig bei relativ niedrigen Temperaturen (< 60°C) oder vollständig bei Raumtemperatur umgesetzt und verarbeitet wird, was positive Effekte für die Beschichtung des Trägermaterials bewirkt. Durch die Kaltwasserlöslichkeit nach der Neutralisation, Separation, Salzabtrennung und dem Aufkonzentrieren kann die Stärke mit einem Amylose Gehalt von 70 % derart schonend verarbeitet werden, dass keine oder nur unbedeutende Abbaureaktionen einsetzen.

Die wässrige Gießlösung kann vorzugsweise bei Raumtemperatur oder leicht erhöhten Temperaturen mit einem geeigneten Auftragssystem (z.B. Rakel) auf die zu beschichtende Materialbahn (Papier) aufgebracht werden.

5

Besonders günstig hat sich die Verwendung von nach dem Autoklav-Verfahren hergestellten Hydroxypropyletherstärken, insbesondere aus Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erwiesen, die als Lösungen mit Trockensubstanz-Gehalten von 12 bis 20 Gew.-% und vorzugsweise mit Derivatisierungs-(DS-)Graden von 0,1 bis 1,0, stärker bevorzugt bis 0,4, eingesetzt werden. Diese zeigen im Vergleich mit Handelsmustern (mit Fluorcarbonsäuren beschichtet) deutlich bessere Fettdichtigkeiten, insbesondere auch in Knickstellenbereichen, die bei Faltschachtelanwendungen besonders kritisch sind. Im Vergleich zu den zuvor genannten erfindungsgemäßen Beschichtungen mit handelsüblichen Stärkederivaten können die für die Beschichtung mit diesen Stärken eingesetzten Flächengewichte reduziert werden.

15

Beispiel 1

Herstellung von transgenen Kartoffelpflanzen mit hohem Amylosegehalt

Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von größer 70 % können hergestellt werden unter Verwendung der Antisense- oder der RNAi-Technologie mit dem Ziel die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II zu reduzieren bzw. zu eliminieren.

Beispielsweise wurde die HA-Stärke produzierende transgene Kartoffellinie *Solanum tuberosum* AM99-2003 hergestellt in der die Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme inhibiert ist. Die genetische Transformation der Ausgangssorte Dinamo wurde durchgeführt mit einem Genkonstrukt, welches Genfragmente unter Kontrolle eines GBSS-Promoters von SBE I und SBE II in antisense-Orientierung enthält. PBluescript enthaltend ein 1620 Basenpaare langes Fragment des 3' Endes des SBE I Genes zwischen EcoRV und SpeI wird mit SpeI und XbaI geschnitten und ligiert mit einem 1243 Basenpaare SstI-XbaI Fragment des 3' Endes von SBE II. Der SBE I und der SBE 2 Komplex wird mit Hilfe von EcoRV und XbaI herausgeschnitten und in den mit SmaI und XbaI geöffneten Binärvektor pHo3.1 ligiert. Der entstandene Vektor wird mit pHabe12A bezeichnet, siehe Abbildung 1 und Nukleinsäuresequenz SEQ-ID No. 1.

35

pHo3.1 basiert auf pGPTVKan (Becker, D. et al., Plant Molecular Biology 20 (1992), 1195-1197) und enthält zusätzlich den 987 Basenpaare umfassenden GBSS-Promotor (siehe EP 0 563 189) der in die HindIII Stelle von pGPTVKan kloniert und dessen uidA Gen mit Hilfe von SmaI und SstI entfernt wurde.

40

Die Elternlinie Dinamo wird mit dem Konstrukt pHabe12A mit der in US 6,169,226 beschriebenen Methode transformiert und die transgenen Linien auf Kanamycin-haltigen

Medien selektioniert. Die Analyse des Amylosegehaltes der transgenen Pflanzen erfolgte nach der bei (Morrison, W.R. and Laignelet, B., J. Cereal. Sci. 1 (1983), 9-20) beschriebenen Methode.

- 5 Transgene Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % wurden selektioniert und angebaut. Die hochamylosehaltige Stärke wurde nach herkömmlichen Methoden isoliert.

Beispiel 2

- 10 Hydroxypropylierung von hochamylosehaltiger Kartoffelstärke

- Hochamylosehaltige Kartoffelstärke gewonnen aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen - siehe Beispiel 1 - wurde im Labormaßstab hydroxypropyliert. Die Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % erfolgte gemäß eines Autoklav- bzw. Homogenverfahrens.
- 15

- Nach der Hydroxypropylierungsreaktion wurde die Lösung für die spätere Beschichtung von Karton durch Entsalzung und Aufkonzentrierung aufbereitet. Das Endprodukt sollte einen Derivatisierungsgrad von ca. 0,2, einen Trockengehalt (w/w) von ca. 18% sowie eine Leitfähigkeit von ca. 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aufweisen.
- 20

Im Rahmen der Versuche zur Kartonbeschichtung wurden mit der hydroxypropylierten HA-Stärke mittels Handrakelauftrag verschiedene Auftragsgewichte erzeugt.

- 25 Zur Beschichtung des Kartons (Firma Cupforma) wurde die HA-Stärke auf 40°C erwärmt. Die HA-Stärkelösung wurde (einmal bzw. zweimal) auf die gestrichene sowie ungestrichene Seite des Kartons aufgetragen.

Beispiel 3

- 30 Charakterisierung des Endproduktes

- Ausgehend von 713 g HA-Stärke aus Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von 70 % - hergestellt nach der in Beispiel 1 beschriebenen Methode - wurden 1770 g Hydroxypropyl-HA-Stärke mit einem Trockengewicht von 27 (w/w) % und einer Leitfähigkeit von 880 $\mu\text{S}/\text{cm}$ hergestellt. Die Leitfähigkeit konnte durch Diafiltration nicht weiter gesenkt werden.
- 35

Beispiel 4

Prüfung der Fettdichtigkeit anhand des 3M-KIT-Tests

- 5 Für die Überprüfung auf die Resistenz gegenüber nicht polaren Substanzen, wird die Beschichtung auf die Dichtigkeit gegenüber Gemischen mit 2 l Prüflösungen unterschiedlicher Konzentrationen an Rizinusöl, Toluol und n-Heptan getestet. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 Sekunden auf der Probe stand ohne einen Durchschlag bzw. eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.

10

Es wurden Kartons der Firma Cupforma verwendet.

Die Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen.

Beschichtung in μm	Auftragsgewicht g/m^2	KIT-Test
12	52,7	>21
24	12,1	>21
24 x 2	44,6	>21

15

In allen drei Fällen erwies sich die Beschichtung mit einer KIT-Zahl > 21 als fettdicht gemäß KIT-Test nach 3M.

Beispiel 5

20

- 713 g Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % werden in 1,3 l destilliertem Wasser 4 Stunden lang gerührt und dann abgenutscht. Die feuchte Stärke wird mit 1,824 l Wasser aufgerührt und mit 1.811 g 10%iger Natronlauge, gewonnen durch Mischen von 376 g 50%iger NaOH mit 1.505 g Wasser versetzt. Die Derivatisierung erfolgt mit 323 g Proylenoxid bei 23°C, das innerhalb von 20 min unter Rühren zugesetzt wird. Man lässt die Mischung noch weitere 4 h rühren und 20 h ruhen. Neutralisiert wird mit 40%iger Phosphorsäure (ca. 700 g). Danach wird die Lösung in Dialyseschläuche gefüllt und ca. 4 Tage bei täglichem Wasserwechsel dialysiert. Das Produkt wird mit Hilfe eines Vacuum-Rotationsverdampfers auf über 20% Trockenmasse aufkonzentriert.

30

Der erhaltene HA-Stärkeether besitzt einen Derivatisierungsgrad von etwa 0,2. Die Leitfähigkeit der Beschichtungsmasse liegt bei etwa 1100 pS/cm.

- 35 Analog zu diesem Beispiel werden die nachstehenden Beschichtungsmassen hergestellt und mit einer 20 μm Rakel auf einseitig gestrichenen Chromo Duplexkarton (GD2), 310 g/m^2 , Dicke ca. 420 μm aufgetragen. Nach der Trocknung des ersten Auf-

trags (fingertrocken, ca. 2 h Dauer) wird eine zweite Schicht aufgetragen und bei Raumtemperatur und etwa 50% Raumfeuchte über etwa 1 Woche, ggf. auch länger, getrocknet.

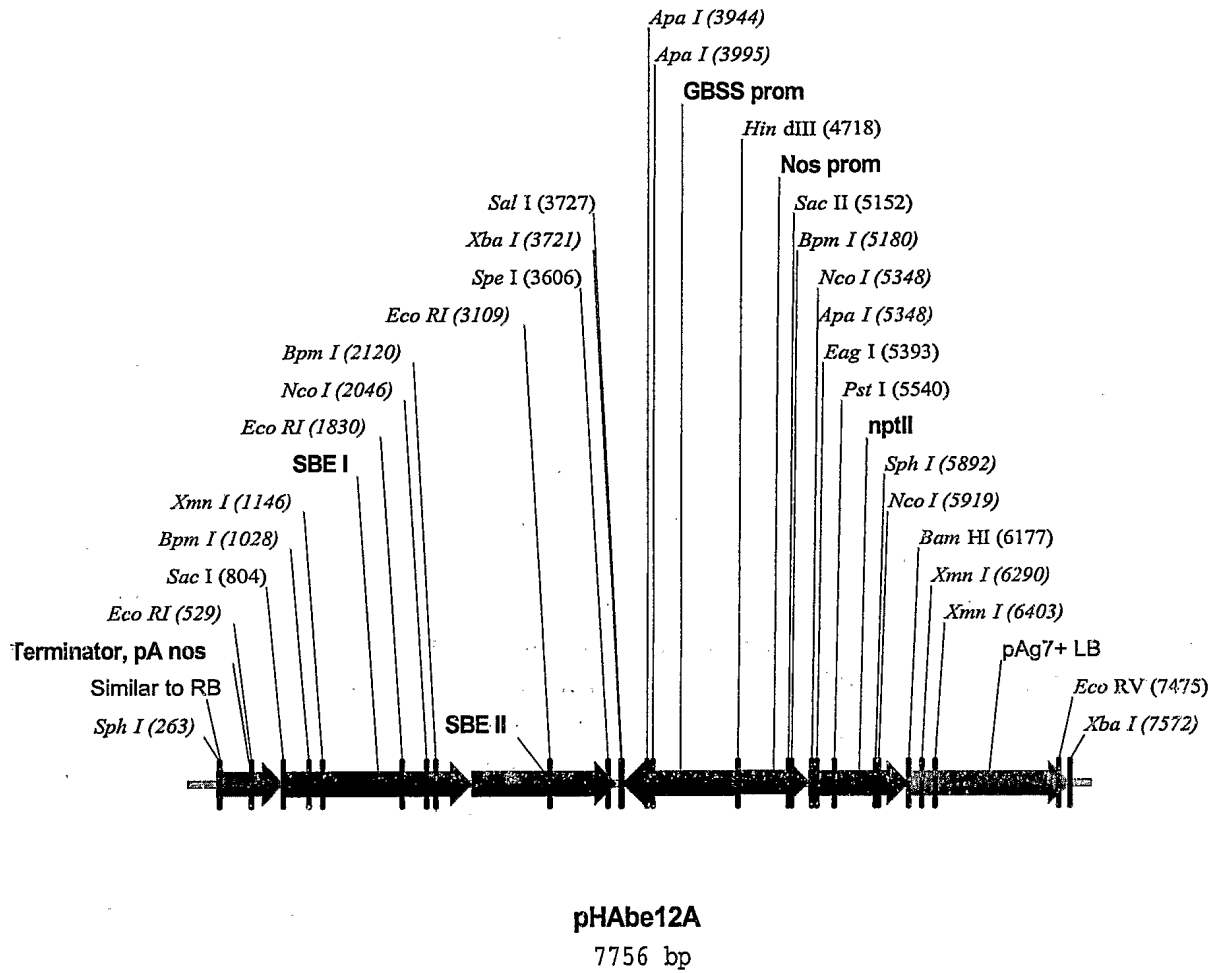
- 5 An drei Kartonbögen der beschichteten Muster erfolgt die Bestimmung der Auftragsmasse durch Wägung (nach DIN 53 104: Prüfung von Papier und Pappe, Bestimmung des Flächengewichts, Sept. 1971) und der Dicke mit einem Dickenmessgerät (Taster: plan/ballig, 30 SKT, MB = 1 μ m). Außerdem wird die KIT- Zahl für unpolare Substanzen nach dem 3M KIT-Test bestimmt. Dabei dienen Lösemittelgemische aus Rizinusöl,
- 10 Toluol und Heptan als Testflüssigkeiten. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 sec. auf der Probe steht, ohne einen Durchschlag oder eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.

Patentansprüche

1. Mehrschichtige Verpackung für fettende Güter oder Teil einer solchen Verpackung, umfassend
- 5
- eine Trägerschicht aus einem polymeren Material als Hauptkomponente und
 - mindestens eine auf die Trägerschicht aufgebrachte, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht, die ein Hochamylose-Stärkederivat mit
- 10
- einem Amylosegehalt von mindestens 70% als Hauptkomponente enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.
- 15
2. Mehrschichtige Verpackung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₄-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.
- 20
3. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist.
- 25
4. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat durch Modifizierung ggf. teilabgebauter Mais-, Weizen-, Kartoffel-, HA Erbsen- oder Tapiokastärke erhalten wird.
- 30
5. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Derivatisierungsgrad des Stärkederivats 0,1 bis 1, stärker bevorzugt 0,1 bis 0,4 beträgt.
- 35
6. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das polymere Material der Trägerschicht ein natürlich vorkommendes Polymer, vorzugsweise Cellulose, ist.
- 40
7. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die ein Hochamylose-Stärkederivat als Hauptkomponente enthaltende Schicht zusätzliche Bestandteile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhöhenden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln und die Elastizität beeinflussenden Mitteln, enthält.

- 5 8. Verwendung einer mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid derivatisierten Hochamylose-Stärke als Hauptkomponente einer Schicht einer mehrschichtigen Verpackung, die auf einer Trägerschicht dieser Verpackung aus einem polymeren Material aufgebracht ist, zur Erzeugung von Fettdichtigkeit der mehrschichtigen Verpackung.
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist .
- 10 10. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Stärkederivat durch Modifizierung von Hochamylose-Kartoffelstärke erhalten wird und ggf. einen Derivatisierungsgrad von 0,1 bis 1, stärker bevorzugt von 0,1 bis 0,4 aufweist.
- 15 11. Verwendung nach einem der Ansprüche 8, 9 oder 10 dadurch gekennzeichnet, dass zur Modifizierung eine Hochamylose-Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verwendet wird.
- 20 12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte Schicht zusätzliche Bestandteile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhöhenden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln, den KIT-Wert erhöhenden Mitteln und die Elastizität beeinflussenden Mitteln, bevorzugt ausgewählt unter Glycerin, Harnstoff, Borax oder Glyoxal, enthält.

Figur 1



SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Plant Science GmbH

5 <120> Verwendung von hydroxypropylierter Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

<130> AE20040256

10 <140> AE20040256
<141> 2004-03-31

<160> 1

15 <170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 15294
<212> DNA

20 <213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Vektor
pHabel2A

25 <400> 1

ggcgcgggagg	gttcgagaag	gggggggcacc	ccccttcggc	gtgcgcggtc	acgcgcacag	60
ggcgcagccc	tggttaaaaa	caaggtttat	aaatatggg	ttaaaagcag	gttaaaagac	120
agggttagcgg	tgcccgaaaa	acgggcgga	acccttgcaa	atgctggatt	ttctgcctgt	180
ggacagcccc	tcaaatgtca	ataggtgcgc	ccctcatctg	tcagcactct	gccctcaag	240
tgtcaaggat	cgcgcccctc	atctgtcagt	agtcgcgccc	ctcaagtgtc	aataccgcag	300
ggcaacttate	cccaggcttg	tccacatcat	ctgtgggaaa	ctcgcgtaaa	atcaggcggtt	360
ttcgcgcgatt	tgcgaggctg	gccagctcca	cgtcgcggc	cgaaatcgag	cctgcccctc	420
atctgtcaac	gccgcgcgg	gtgagtcggc	ccctcaagtg	tcaacgtccg	ccctcatct	480
gtcagtgagg	gccaaagttt	cegegaggta	tccaaacgc	cggcggccgc	ggtgtctcgc	540
acacggcttc	gacggcggtt	ctggcgcggt	tgacgggcca	tagacggccg	ccagcccagc	600
ggcgagggca	accagcccgg	tgagcgtcgc	aaaggcgctc	ggtcttgcc	tgctcgtcgg	660
tgatgtactt	caccagctcc	gcgaagtcgc	tcttcttgat	ggagcgcag	gggacgtgct	720
tggcaatcac	ggcaccccc	cggccggttt	agcggcctaa	aaagtcagtg	ctctgccctc	780
gggcggaaca	cgcccatcat	gaccttgcca	agctcgctcc	gcttctcttc	gatcttcgac	840
agcaggcgca	ggatcggtgg	atcacccaac	cgcgcgctgc	gcgggtcgtc	ggtgagccag	900
agtttcagca	ggcgcgccag	gcgccccagg	tcgccattga	tgccggccag	ctcgcggagc	960
tgctcatagt	ccacgacgcc	cgtgattttg	tagccttgcc	cgacggccag	caggtaggcc	1020
gacaggctca	tgccggccgc	cgccgccttt	tcctcaatcg	ctcttcggtc	gtctggaagg	1080
45 cagtacacct	tgataggtgg	gctgcccttc	ctggttggct	tggtttcatc	agccatccgc	1140
ttgccctcat	ctgttacgcc	ggcggtagcc	ggccagcctc	gcagagcagg	attcccgttg	1200
agcaccccca	ggtgcgaata	agggacagtg	aagaaggaa	acccgctcgc	gggtgggcct	1260
acttcaccta	tcctgcccgg	ctgacgcctg	tggatacacc	aaggaaagtc	tacacgaacc	1320
cttttgcaaa	atcctgtata	tcgtgcgaaa	aaggatggat	ataccgaaaa	aatcgctata	1380
50 atgaccccca	agcagggtta	tgacgcgga	aagcgccacg	cttcccgaag	ggagaaaggc	1440
ggacagggtat	ccggtaagcg	gcagggtcgg	aacaggagag	cgcacgaggg	agcttccagg	1500
gggaaacgcc	tggtatcttt	atagtcctgt	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgctc	1560
atttttgtga	tgctcgctcag	gggggcccgg	cctatggaaa	aacgcccagc	acgcggcctt	1620
tttaocggttc	ctggcctttt	gctggccttt	tgctcacatg	ttctttcctg	cgttatcccc	1680
55 tgattctgtg	gataaccgta	ttaccgcctt	tgagttagct	gataccgctc	gccgcagccg	1740
aacgaccgag	cgcagcgagt	cagttagcga	ggaagcggaa	gagcgccaga	aggccgccag	1800
agaggccgag	cgcggccgtg	aggcttggac	gctagggcag	ggcatgaaaa	agcccgtagc	1860
gggctgctac	gggcgtctga	cgcggtggaa	agggggaggg	gatgttgctc	acatggctct	1920
gctgtagtga	gtgggttgcg	ctccggcagc	ggtcctgac	aatcgtcacc	ctttctcggt	1980
60 ccttcaacgt	tcctgacaac	gagcctcctt	ttcgccaatc	catcgacaat	caccgcgagt	2040
ccctgctcga	acgctgcgtc	cggaccggct	tcgtcgaagg	cgtctatcgc	ggcccgaac	2100
agcggcgaga	cgggagcctg	ttcaacgggt	ccgcgcgcgt	cgcgggcac	gctgtcgcgg	2160
gcctgctcct	caagcacggc	cccaacagtg	aagtagctga	ttgtcatcag	cgcattgacg	2220
gcgtccccgg	cggaaaaacc	cgcctcgcag	aggaagcgaa	gctgcgcgtc	ggccgtttcc	2280

	atctgcggtg	cgccccggtcg	cgtgcgcggca	tggatgcgcg	cgccatcgcg	gtaggcgagc	2340
	agcgccctgcc	tgaagctgog	ggcattcccg	atcagaaatg	agcgccagtc	gtcgtcggct	2400
	ctcggcaccg	aatgcgtatg	attctccgcc	agcatggctt	cggccagtg	gtcgagcagc	2460
	gccccgttgt	tctgaagtg	ccagtaaagc	gccggctgct	gaacccccaa	ccgttccgcc	2520
5	agtttgcgtg	togtcagacc	gtctacgcg	acctcgttca	acaggtccag	ggcgggcacg	2580
	atcactgtat	toggctgcaa	ctttgtcatg	cttgacactt	tatcactgat	aaacataata	2640
	tgtccaccaa	cttatcagtg	ataaagaatc	cgcgcgttca	atcggaccag	cggaggctgg	2700
	tccggaggcc	agacgtgaaa	cccaacatac	ccctgatcgt	aattctgagc	actgtcgcgc	2760
	tcgacgctgt	cggcatcggc	ctgattatgc	cggtgctgcc	gggcctcctg	cgcgatctgg	2820
10	ttcactcgaa	cgacgtcacc	gcccactatg	gcattctgct	ggcgctgtat	gcgttgggtg	2880
	aatttgcttg	cgcacctgtg	ctgggcgcgc	tgtcggatcg	tttcggggcg	cggccaatct	2940
	tgctcgtctc	gctggccggc	gccaagatct	ggggaaacct	gtggttggca	tgacacatac	3000
	aatggacgaa	cggataaacc	ttttcacgcc	cttttaaaata	tccgattatt	ctaataaacg	3060
	ctcttttctc	ttaggtttac	ccgcgaatat	atcctgtcaa	acactgatag	tttaaaactga	3120
15	aggcgggaaa	cgacaatctg	atcatgagcg	gagaattaa	ggagtcacgt	tatgaccccc	3180
	gccgatgacg	cgggacaagc	cgttttacgt	ttggaactga	cagaaccgca	acgttgaagg	3240
	agccactcag	cogactcgaa	ttcccgatct	agtaacatag	atgacaccgc	gcgcgataat	3300
	ttatcctagt	ttgcgcgcta	tattttgttt	tctatcgcgt	attaaatgta	taattgcggg	3360
	actctaatac	taaaaaccca	tctcataaat	aacgtcatgc	attacatggt	aattattaca	3420
20	tgcttaacgt	aattcaacag	aaatttatatg	ataatcatcg	caagaccggc	aacagatttc	3480
	aatcttaaga	aactttattg	ccaaatgttt	gaacgatcgg	ggaaattcga	gctcgggtacc	3540
	atcatgtttc	aaactttttt	gctgtgagca	gtagatatgg	aaacccggag	gacctaaagt	3600
	atctgataga	taaagcacat	agcttgggtt	tacaggttct	ggtggatgta	gttcacagtc	3660
	atgcaagcaa	taatgccact	gatggcctca	atggctttga	tattggccaa	ggttctcaag	3720
25	aatcctactt	tcatgctgga	gagcaagggt	accataagtt	gtgggtagac	aggctgttca	3780
	actatgccaa	ttgggaggtt	cttcgtttcc	ttctttccaa	cttgagggtg	tggttagaag	3840
	agtataactt	tgacggattt	cgatttgatg	gaataacttc	tatgctgtat	gttcatcatg	3900
	gaatcaatat	gggatttaca	ggaaactata	atgagtattt	cagcgaaggct	acagatgttg	3960
	atgctgtggt	ctattttaatg	ttggccaata	atctgattca	caagattttc	ccagacgcaa	4020
30	ctgttattgc	cgaagatggt	tctgggtatg	cgggccttgg	cgggcctggt	tctgaggagg	4080
	gaattgggtt	tgattaccgc	ctggcaatgg	caatcccaga	taagtggata	gattatttaa	4140
	agaataaaaa	tgatgaagat	tgggtccatga	aggaagtaa	atcgagtttg	acaaatagga	4200
	gatatacaga	gaagtgtata	gcataatgog	agagccatga	tcagtctatt	gtcggtgaca	4260
	agaccatttg	atcttctcta	atggacaaa	agatgtattc	tggcatgtct	tgcttgacag	4320
35	atgcttctcc	tgttattgat	cgaggaattg	cgtctcaca	gatgatccat	tttttcacaa	4380
	tggccttggg	aggagagggg	tacctcaatt	tcatgggtaa	cgagtttggc	catcctgagt	4440
	ggattgactt	ccctagagag	ggcaataatt	ggtgttatga	caaagttaga	cgcagtgga	4500
	accttgcgga	tagcgaacac	ttgagataca	agtttatgaa	tgcatttgat	agagctatga	4560
	attcgcctga	tgaaaagttc	tcatttctcg	catcaggaaa	acagatagta	agcagcatgg	4620
40	atgatgagaa	gaaggttggt	gtgtttgaac	gtggtgacct	ggtatttgta	ttcaacttcc	4680
	acccaaataa	cacatacgaa	gggtataaag	ttggatgtga	cttgccaggg	aagtaacag	4740
	ttgcactgga	cagtgatgct	tgggaatttg	gtggccatgg	aagagctggt	catgatgttg	4800
	accatttcac	atcaccagaa	ggaataacct	gagttccaga	aacaaatttc	aatggtcgtc	4860
	caaattcctt	caaagtgtcg	tctcctgcgc	gaacatgtgt	ggcttattac	agagttgacg	4920
45	aacgcatgtc	agaaactgaa	gtttaccaga	cagacatttc	tagtgagcta	ctaccaacag	4980
	ccaatatcga	ggagagtgc	gagaaactta	aagattcgtt	atctacaaat	atcagtaacg	5040
	ttgacgaact	catgtcagaa	actgaagttt	accagacaga	catttctagt	gagctactac	5100
	caacagccag	tatcgaggag	agtgcagaga	aacttaagaa	ttcattatct	acaaatatca	5160
	gtacgtgggt	atcattggat	gtgggattcc	cgcctcttta	attatggaaa	ctgggaggta	5220
50	cttaggtatc	ttctctcaaa	tgcgagatgg	tgggttgatg	agttcaaatt	tgatggattt	5280
	agattcgatg	gtgtgacatc	aataatgtat	actcaccacg	gattatcggg	gggattcact	5340
	gggaactaca	aggaataactt	tggactcgca	actgatgtgg	atgctgttgt	gtatctgatg	5400
	ctggtcaacg	atcttattca	tgggcttttc	cagatgcaat	taccattggg	gaagatgta	5460
	gcggaatgcc	gacattttgt	attcccgctt	aagatggggg	tgttggcctt	gactatcgcc	5520
55	tgcatatggc	aattgctgat	aaatggattg	agttgctcaa	gaaacgggat	gaggattgga	5580
	gagtggttga	tattgttcat	acactgacaa	atagaagatg	gtcggaaaag	tgtgtttcat	5640
	acgctgaaag	tcatgatcaa	gctctagtgc	gtgataaaac	tatagcattc	tggtctgatg	5700
	acaaggatat	gtatgatttt	atggctctgg	atagaccatc	aacatcatta	atagatcgtg	5760
	ggatagcatt	gcacaagatg	attaggcttg	taactatggg	attaggagga	gaaggggtacc	5820
60	taaaatttcat	gggaaatgaa	ttcgggccac	ctgagtggtg	tgatttccct	agggctgaac	5880
	aacacctctc	tgatggctca	gtaattcccg	gaaaccaatt	cagttatgat	aaatgcagac	5940
	ggagatttga	cctgggagat	gcagaatatt	taagataccg	tgggttgcaa	gaatttgacc	6000
	gggctatgca	gtatcttgaa	gataaatatg	agtttatgac	ttcagaacac	cagttcatat	6060
	cacgaaagga	tgaaggagat	aggatgattg	tatttgaaaa	aggaaacctc	gtttttgtct	6120

	ttaatttttca	ctggacaaaa	agctatttcag	actatcgcac	aggctgcctg	aagcctggaa	6180
	aatacaaggt	tgcccttgac	tcagatgatc	cacttttttg	tggtctcggg	agaattgatc	6240
	ataatgccga	atattttcacc	tttgaaggat	ggatgatga	tcgtcctcgt	tcaattatgg	6300
	tgtatgcacc	tagtagaaca	gcagtgggtc	atgcactagt	agacaaaaga	gaagaagaag	6360
5	aagaagaagt	agcagtagta	gaagaagtag	tagtagaaga	agaatgaacg	aacttgtgat	6420
	cgcggttga	gatttgaagg	ctacatagct	ctagagtcga	cctgcatgaa	atcagaaata	6480
	attggaggag	atgagtaaaa	gttaccactt	gttagctgt	gtgagtgaat	gagtgagaat	6540
	gaggaggtgc	ctgccttatt	tgtagcaggt	ttcagtgaac	cgtgtcaaga	gaatagcggg	6600
	tggttatccc	ttagcagaag	gcaactgtgg	acactgtatt	atagggaat	gctcatcgac	6660
10	agtattatgg	gcccctctct	tgttgattca	cggctggact	tcaacttggg	ccttgcaatg	6720
	ggcccgctcg	gttctgtctc	ctagtatcta	aaaaactaaa	ccaactccct	cctaccgcta	6780
	ccacttgaca	ttcctatgtc	tcgtgttaat	ttaattatta	ttatagtaat	taaaaaataat	6840
	atctaggtac	tggtactggt	ccctccctcc	actagaatat	tagttacttc	ccccttagct	6900
	ttgtattcca	aattactgta	aatatatttt	ctaatttttt	acgacaaaac	agatttgaat	6960
15	atgaatgcac	aattctaaag	gttgaataca	ttactttact	tggttttagcc	tatatataag	7020
	tgcatTTTTag	tattaagatt	gagatgcatg	gttctattac	aaaattgata	cactgctaaa	7080
	ggaaggatgg	ttaaaaacaa	cattcaatgt	ttgttacatt	tcttctctatt	gtattttttt	7140
	tttaacgagc	ttcccgtata	catcataaca	tgtctccggt	ccacttggca	ggaaaaaaaa	7200
	atacccaaac	aggaagatac	tgtcaagtat	atccatagat	gaggacttaa	tggaataggc	7260
20	tttcogaggt	tcataaatca	taatatctgg	cggaggagtc	aattaaatac	ttgtggtttg	7320
	tatcttgatt	actccgtcaa	cagccaaata	gaaaagtgtg	aaaagagaga	aaggatttgg	7380
	tacaagatac	tggtgcattt	gttaagtaat	gaacaaaacg	gagtaacata	attttctatc	7440
	tcgttaaagc	ttcacgctgc	cgcaagcact	cagggcgcaa	gggctgctaa	ggaagcggaa	7500
	cacgtagaaa	gccagtcgac	agaaacgggt	ctgaccccg	atgaatgtca	gctactgggc	7560
25	tatctggaca	agggaaaacg	caagcgcaaa	gagaaagcag	gtagcttgca	gtgggcttac	7620
	atggcgatag	ctagactggg	cggtttttat	gacagcaagc	gaaccggaat	tgccagctgg	7680
	ggcgccctct	ggtaagggtg	ggaagccctg	caaagtaaac	tggtatggct	tcttgccgcc	7740
	aaggatctga	tgggcgaggg	gatcaagatc	atgagcggag	aattaaggga	gtcacgttat	7800
	gacccccgcc	gatgacggcg	gacaagccgt	tttacgtttg	gaactgacag	aaccgcaacg	7860
30	ttgaaggagc	cactcagccg	cgggtttctg	gagtttaatg	agctaagcac	atacgtcaga	7920
	aaccattatt	gcgcgttcaa	aagtcgccta	aggtcactat	cagctagcaa	atatttcttg	7980
	tcaaaaatgc	tccactgaag	ttccataaat	tcccctcggt	atccatattg	agctctcatat	8040
	tcactctcaa	tccagatctc	gactctagtc	gagggcccat	gggagcttgg	attgaacaag	8100
	atggattgca	cgcaggttct	cggccgctt	gggtggagag	gctattcggc	tatattcagg	8160
35	cacaacagac	aatcggctgc	tctgatgcgc	ccgtgttccg	gctgtcagcg	caggggagcc	8220
	cggttctttt	tgtcaagacc	gacctgtccg	gtgccctgaa	tgaactgcag	gacgaggcag	8280
	cgcggctatc	gtggctggcc	acgacgggag	ttccttgccg	agctgtgctc	gacgttgtca	8340
	ctgaagcggg	aagggactgg	ctgctattgg	gcgaagtgcc	ggggcaggat	ctcctgtcat	8400
	ctcaccttgc	tccctgocag	aaagtatcca	tcatggctga	tgcaatgcgg	cggctgcata	8460
40	cgtctgatcc	ggctaactgc	ccatttcgac	accaagcgaa	acatcgcatc	gacgagcac	8520
	gtactcggat	ggcagccggt	cttgctgac	aggatgatct	ggacgaagag	catcaggggc	8580
	tcgcgccagc	cgaactgttc	gocaggctca	aggcgccgat	gcccgcaggg	gaggatctcg	8640
	tcgtgaccca	tggtgatgcc	tgcttgccga	atatcatggt	ggaaaatggc	cgcttttctg	8700
	gattcatoga	ctgtggccgg	ctgggtgtgg	cggaccgcta	tcaggacata	gcgttggcta	8760
45	cccgtgatat	tgctgaagag	cttgccggcg	aatgggctga	ccgcttcctc	gtgctttacg	8820
	gtatcgccgc	tcccgattcg	cagcgcacgc	ccttctatcg	ccttcttgac	gagttcttct	8880
	gagcgggacc	caagctagct	tcgacggatc	ccccgatgag	ctaagctagc	tatatcatca	8940
	atttatgcct	tacacataat	atgcacatca	gtctttcatc	tacggcaatg	taccagctga	9000
	tataatcagt	tattgaaata	ttttotgaatt	taaacttgca	tcaataaatt	tatgtttttg	9060
50	cttggactat	aatacctgac	ttgttatttt	atcaataaat	atttaaaacta	tatttctttc	9120
	aagatgggaa	ttaattcact	ggcgcgtcgt	ttacaacgct	gtgactggga	aaaccctggc	9180
	gttaccacca	ttaatcgcc	tgcaacacat	ccccctttcg	ccagctggcg	taatagcgaa	9240
	gaggcccgca	ccgatcgccc	ttcccaacag	ttgcgcagcc	tgaatggcgc	ccgctccttt	9300
	cgctttcttc	ccttcccttc	tggccacgtt	cgcgggcttt	ccccgtcaag	ctctaaatcg	9360
55	ggggctccct	ttagggttcc	tttaggtgac	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	9420
	tttgggtgat	ggttcacgta	gtgggocac	gcccgtgatg	acggtttttc	gccccttgac	9480
	gttggagtcc	acgttcttta	atagtggact	cttgttccaa	actggaacaa	cactcaaccc	9540
	tatctcgggc	tattcttttg	atttataagg	gattttgccc	atttcggaac	caccatcaaa	9600
	caggattttc	gcctgctggg	gcaaaccagc	gtggaccgct	tgctgcaact	ctctcagggc	9660
60	caggcgggtga	agggcaatca	gctgttgccc	gtctcactgg	tgaaaagaaa	aaccacccca	9720
	gtacattaaa	aacgtccgca	atgtgttacc	aagttgtcta	agcgtcaatt	tgtttacacc	9780
	acaatatatc	ctgccaccag	ccagccaaca	gctccccgac	cggcagctcg	gcacaaaatc	9840
	accactcgat	acaggcagcc	catcagtcgc	ggacggcgct	agcgggagag	ccgttgtaag	9900
	gcggcagact	ttgctcatgt	taccgatgct	attcggaaga	acggcaacta	agctgccggg	9960

	tttgaacac	ggatgatctc	gcgagggtta	gcattgttgat	tgtaacgatg	acagagcggt	10020
	gctgcctgtg	atcaaatatc	atctccctcg	cagagatccg	aattatcagc	cttcttattc	10080
	atctctcgct	taaccgtgac	aggctgtcga	tcttgagaac	tatgccgaca	taataggaaa	10140
	tcgctggata	aagccgctga	ggaagctgag	tgccgctatt	tctttagaag	tgaacgttga	10200
5	cgatatcaac	ccccctatcc	attgtctacc	gaatgggtaca	ggctgggggac	ccgaagttcc	10260
	gactgtcggc	ctgatgcac	cccggtgat	cgaccccgaga	tctagatctg	gggctgagaa	10320
	agcccagtaa	ggaacaact	gtagggttcga	gtcgcgagat	cccccggaac	caaaggaaagt	10380
	agggttaaacc	cgctccgato	aggccgagcc	acgccaggcc	gagaacattg	gttcctgtag	10440
	gcatcgggat	tgccggatca	aacactaaag	ctactggaac	gagcagaagt	cctccggccg	10500
10	ccagttgcc	ggcggtaaag	gtgagcagag	gcacggggagg	ttgccacttg	cggttcagca	10560
	cggttccgaa	cgccatggaa	accgcccccg	ccaggccccg	tgccagcccg	acaggatcta	10620
	gcgctgcgtt	tggtgtcaac	accaacagcg	ccacgccccg	agttccgcaa	atagccccca	10680
	ggaccgccat	caatcgtatc	gggttaccta	gcagagcgcc	agagatgaac	acgaccatca	10740
	gcggctgcac	agcgccctacc	gtccgcgcga	ccccgcccgg	caggcggtag	accgaaataa	10800
15	acaacaagct	ccagaatagc	gaaatatata	gtgcgcgcag	gatgaagatg	cgcatccacc	10860
	agattcccgt	tggaatctgt	cggacgatca	tcacgagcaa	taaacccgcc	ggcaacgccc	10920
	gcagcagcat	accggcgacc	cctcgccctc	gctgttcggg	ctccacgaaa	acgccggaca	10980
	gatgcgcctt	gtgagcgctc	ttggggccgt	cctcctgttt	gaagaccgac	agcccaatga	11040
	tctcgccgtc	gatgtaggcg	ccgaatgcca	cggcatctcg	caaccgttca	gcgaacgcct	11100
20	ccatgggctt	tttctcctcg	tgctcgtaaa	cggaccggaa	catctcttga	gctttcttca	11160
	gggcccgaac	tcggatctcg	cggaaatcct	gcacgtcgcc	cgctccaagc	cgctcgaatct	11220
	gagccttaat	cacaattgtc	aatttttaac	ctctgtttat	cggcagttcg	tagagcgccg	11280
	cgtgcgtccc	gagcgatact	gagcgaagca	agtgcgtcga	gcagtgcccg	cttgttccctg	11340
	aaatgccagt	aaagcgctgg	ctgctgaacc	cccagccgga	actgacccca	caaggcccta	11400
25	gcgtttgcaa	tgccaccagg	catcattgac	ccaggcggtg	tccaccaggc	cgctgcctcg	11460
	caactcttcg	caggcttcgc	cgacctgtct	gcgccacttc	ttcacgcggg	tggaatccga	11520
	tccgcacatg	aggcgggaag	tttccagctt	gagcggttac	ggctcccggg	gcgagctgaa	11580
	atagtcgaac	atccgctggg	ccgctcggga	cagcttgccg	tacttctccc	atatgaattt	11640
	cgtgtagtgg	tcgccagcaa	acagcacgac	gatttctctg	tcgatcagga	cctggcaacg	11700
30	ggacgttttc	ttgccacggg	ccaggacggg	gaagcggtgc	agcagcgaca	ccgattccag	11760
	gtgcccaacg	cggtcggacg	tgaagcccat	cgccgtcgcc	tgtaggcgcg	acaggcattc	11820
	ctcggccttc	gtgtaatacc	ggccattgat	cgaccagccc	aggtcctggg	aaagctcgta	11880
	gaacgtgaag	gtgatcggtc	cgcgataggg	ggctgcgttc	gcgtactcca	acactgtctg	11940
	ccacaccagt	tcgtcatcgt	cggcccgccg	ctcgacggcg	gtgtagggtg	tcttcacgtc	12000
35	cttgttgagc	tggaataatga	ccttggtttg	cagcgccctg	cgccgggattt	tcttgttgcg	12060
	cgtggtgaac	agggcagagc	gggcccgtgc	gtttggcatc	gctcgcatcg	tgtccggcca	12120
	cggcgcaata	togaacaagg	aaagctgcat	ttccttgatc	tgctgcttcg	tgtgtttcag	12180
	caacgcggcc	tgcttggcct	cgctgacctg	ttttgcccag	tcctcgccgg	cggttttttcg	12240
	cttcttggtc	gtcatagtct	ctcgcggtgc	gatgggtcatc	gacttcgcca	aacctgcgcg	12300
40	ctcctgttcg	agacgacggc	aacgctccac	ggcgcccgat	ggcgccggga	ggcgaggggg	12360
	agccagttgc	acgtctgcgc	gctcgatctt	ggccgtagct	tgctggacca	tcgagccgac	12420
	ggactgggaag	gtttcgccggg	ggcgaogcat	gacgggtgcg	cttgcgatgg	tttcggcatc	12480
	ctcgccggaa	aaaccccggt	cgatcagttc	ttgcctgtat	gccttccggg	caaacgtccg	12540
	atcatttcac	cctccttgcg	ggattgcccc	gactcacggc	ggggcaatgt	gcccttattc	12600
45	ctgatttgac	ccgcctgggtg	ccttggtgtc	cagataatcc	accttatcgg	caatgaagtc	12660
	ggtcccgtag	accgtctggc	cgtccttctc	gtacttggtg	ttccgaatct	tgccctgcac	12720
	gaataccagc	gaccccttgc	ccaaataact	gccgtggggc	tcggccgtgag	agccaaaaca	12780
	cttgatcgcg	aagaagtggg	tgcgctcctg	cttgctcgcc	gcacgttgc	gccacatcta	12840
	ggtactaaaa	caattcatcc	agtaaaatat	aataattttat	tttctcccaa	tcaggcttga	12900
50	tccccagtaa	gtcaaaaaat	agctcgacat	actgtttctc	cccgatatcc	tccttgatcg	12960
	accggacgca	gaaggcaatg	tcataccact	tgtccgccct	gccgcttctc	ccaagatcaa	13020
	taaaagccact	tactttgcca	tctttcacaa	agatgttgct	gtctcccagg	tcgccgtggg	13080
	aaaagacaag	ttcctcttct	ggctttttcg	cttttaaaaa	atcatacagc	tcgcgcggat	13140
	ctttaaatgg	agtgtcttct	tccagttttt	cgcgaatccac	atcgcccgaga	tcgttattca	13200
55	gtaagtaatc	caattcggct	aagcggtgtg	ctaagctatt	cgtataggga	caatccgata	13260
	tgctcgatgga	gtgaaagagc	ctgatgcact	ccgcatacag	ctcgataatc	ttttcagggc	13320
	tttgttcac	ttcatactct	tcogagcaaa	ggacgccatc	ggcctcactc	atgagcagat	13380
	tgctccagcc	atcatgccgt	tcaaagtgc	ggacctttgg	aacaggcgag	tttccttcca	13440
	gccatagcat	catgtccttt	tcccggttcc	catcatagggt	ggtcccttta	taccggctgt	13500
60	ccgtcatctt	taaatatagg	ttttcttttt	ctcccaccag	cttatatacc	ttagcaggag	13560
	acattccttc	cgtatctttt	acgcagcggt	attttctgat	cagttttttc	aattccgggtg	13620
	atattctcat	tttagccatt	tattattttc	ttcctctttt	ctacagtatt	taaagatacc	13680
	ccaagaagct	aattataaca	agacgaactc	caattcactg	ttccttgcat	tctaaaacct	13740
	taaataccag	aaaacagctt	tttcaaagtt	gttttcaaag	ttggcgatata	acatagtatc	13800

	gacggagccg	atthttgaaac	cacaattatg	ggtgatgctg	ccaacttact	gatttagtgt	13860
	atgatgggtg	ttttgaggtg	ctccagtggc	ttctgtgtct	atcagctgtc	cctcctgttc	13920
	agctactgac	ggggtgggtg	gtaacggcaa	aagcacccgc	ggacatcagc	gctatctctg	13980
	ctctcactgc	cgtaaaacat	ggcaactgca	gttcacttac	accgcttctc	aaccgggtac	14040
5	gcaccagaaa	atcattgata	tggccatgaa	tggcgttggg	tgccggggcaa	cagcccgcac	14100
	tatgggctgt	ggcctcaaca	cgattttacg	tcacttaaaa	aactcaggcc	gcagtgggta	14160
	acctcgcgca	tacagccggg	cagtgcgctc	atcgtctgcg	cggaatgga	cgaacagtgg	14220
	ggctatgtcg	gggctaaatc	gcgccagcgc	tggctgtttt	acgcgtatga	cagtctccgg	14280
	aagacgggtg	ttgcgcacgt	attcggtgaa	cgcactatgg	cgacgctggg	gcgtcttatg	14340
10	agcctgctgt	caccctttga	cgtggtgata	tggatgacgg	atggctggcc	gctgtatgaa	14400
	tcccgccctga	agggaaagct	gcacgtaatc	agcaagcgat	atacgcacgc	aattgagcgg	14460
	cataacctga	atctgaggca	gcacctggca	cggctgggac	ggaagtcgct	gtcgttctca	14520
	aaatcggtgg	agctgcatga	caaagtcatc	gggcattatc	tgaacataaa	acactatcaa	14580
	taagttggag	tcattaccca	attatgatag	aattttacaag	ctataagggt	attgtcctgg	14640
15	gtttcaagca	ttagtccatg	caagttttta	tgctttgccc	attctataga	tatattgata	14700
	agcgcgctgc	ctatgccttg	ccccctgaaa	tccttacata	cggcgatatc	ttctatataa	14760
	aagatatatt	atcttatcag	tattgtcaat	atattcaagg	caatctgcct	cctcatcctc	14820
	ttcatcctct	tcgtcttggg	agctttttta	atatggcgct	tcatagagta	attctgtaaa	14880
	ggtccaattc	tcgtttttcat	acctcggtat	aatcttacct	atcacctcaa	atggttcgct	14940
20	gggtttatcg	cacccccgaa	cacgagcacg	gcacccgcga	ccactatgcc	aagaatgccc	15000
	aaggtaaaaa	ttgccggccc	cgccatgaag	tcggtgaatg	ccccgacggc	cgaagtgaag	15060
	ggcaggccgc	cacccaggcc	gccgccctca	ctgcccgcca	cctggctcgct	gaatgtcgat	15120
	gccagcacct	gcggcacgct	aatgcttccg	ggcgctcgcg	tcgggctgat	cgcccatccc	15180
	gttactgccc	cgatcccggc	aatggcaagg	actgccagcg	ctgccatttt	tgggggtgagg	15240
25	ccgttcgcgg	cagagggggc	cagcccctgg	ggggatggga	ggcccgcggt	agcg	15294